

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO MEL DA
ABELHA *MELIPONA SCUTELLARIS* SOBRE O FUNGO *MALASSEZIA*
*PACHYDERMATIS***

Ludmylla de Lourdes dos Santos Pereira

Areia – PB
2018



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA



**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO MEL DA
ABELHA *MELIPONA SCUTELLARIS* SOBRE O FUNGO *MALASSEZIA*
*PACHYDERMATIS***

Ludmylla de Lourdes dos Santos Pereira

**Trabalho de conclusão de curso apresentado como
requisito parcial para obtenção do título de
Bacharel em Medicina Veterinária pela
Universidade Federal da Paraíba, sob orientação
do Profº. Luiz Eduardo Carvalho Buquera.**

Areia – PB

2018

Ficha Catalográfica Elaborada na Seção de Processos Técnicos da
Biblioteca Setorial do CCA, UFPB, Campus II, Areia – PB.

P436a Pereira, Ludmylla dos Santos.

Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana do mel da abelha melipona
scutellaris sobre o fungo malassezia pachydermatis. / Ludmylla dos Santos Pereira.
- Areia: UFPB/CCA, 2018.

17 f.: il.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Medicina Veterinária) - Centro
de Ciências Agrárias. Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2018.

Bibliografia.

Orientador: Luiz Eduardo Carvalho Buquera.

1. Mel. 2. Atividade antimicrobiana do mel. 3. Medicina Veterinária. I. Buquera,
Luiz Eduardo Carvalho (Orientador). II. Título.

UFPB/CCA

CDU: 638.16



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA



FOLHA DE APROVAÇÃO

Ludmylla de Lourdes dos Santos Pereira

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO MEL DA
ABELHA *MELIPONA SCUTELLARIS* SOBRE O FUNGO *MALASSEZIA*
*PACHYDERMATIS***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para obtenção do título de **Bacharel em Medicina Veterinária**, pela Universidade Federal da Paraíba.

Aprovado em:

Nota:

Banca Examinadora

Prof. Dr. Luiz Eduardo Carvalho Buquera (UFPB)

Prof^a. Dr^a Anne Evelyne Franco de Souza (UFPB)

Médica Veterinária Luana Teles Ramos (UFPB)

Areia – PB

2018

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Ivaneide e José Alberto, por todo apoio e compreensão, por estarem sempre ao meu lado e por não deixarem de confiar em mim e no meu potencial, sem dúvidas, devo tudo a vocês.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ser fiel e abençoar todos os meus projetos, sonhos e planos.

Aos meus pais que sempre me apoiaram e fizeram de tudo que estava ao alcance para que eu concluísse meu curso, tão sonhado. Em especial a minha mãe, que me ensinou a amar e cuidar dos animais. Obrigada por tudo, amo vocês.

Aos meus irmãos e sobrinhos, o apoio de vocês foi imprescindível para que eu chegasse até aqui, obrigada por compartilhar comigo momentos de tristezas e de vitórias, sem vocês, nada disso seria possível.

Ao meu noivo Cleriston, por sempre ter me apoiado e incentivado, mesmo quando eu pensei que nada iria dá certo.

Aos meus amigos e aos colegas de curso, em especial, às minhas amigas companheiras de curso, Kali, Mônica, Gabi, Lorena, Renata e Laís com as quais compartilhei momentos de desespero e alegrias, por serem minha família em Areia e nunca me deixarem desistir.

As minhas amigas Alinne, Dally, Luana e Alane, que contribuíram de alguma forma para que eu chegasse até aqui, com sua amizade, apoio e ensinamentos que levarei para minha vida pessoal e profissional.

Aos meus amigos David, Jessyca e Thó, pelas conversas e risadas compartilhadas, por serem mais que meus amigos.

A Vânia por ter feito parte desse trabalho, sendo essencial para sua conclusão. Muito obrigada por ser uma grande amiga.

Aos meus professores de curso, que sempre se empenharam em passar seus conhecimentos da melhor forma, e contribuíram de forma única para minha formação. A meu orientador Professor Luiz, por todo ensino, orientação e confiança, pela amizade construída ao longo dessa jornada.

A todos aqueles que fizeram parte deste trabalho e que me ajudaram para que eu conseguisse concluí-lo, especialmente, Profa. Dra. Anne Evelyne, Profa. Dra. Suzana Araújo e Profa. Dra. Adriana Evangelista.

A José Domingos de Amorim e a José Geraldo Trajano da Silva, donos dos Meliponários onde foram coletados os méis, por sua gentileza ao terem me doado o mel para o estudo.

A todos aqueles que contribuíram de alguma forma para que eu chegasse até aqui, os meus sinceros agradecimentos!

*“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de
água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota. ”*

Madre Tereza de Calcutá

RESUMO

PEREIRA, Ludmylla de Lourdes dos Santos, Universidade Federal da Paraíba, janeiro de 2018. **Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana do mel da abelha *Melipona scutellaris* sobre o fungo *Malassezia pachydermatis*.** Orientador: Luiz Eduardo Carvalho Buquera.

O mel é um alimento natural produzido por diferentes espécies de abelhas, que apresenta atividade antimicrobiana, antifúngica, anti-inflamatória. As abelhas sem ferrão ou meliponíneos, constituem um grupo de mais de 300 espécies, entre elas a *Melipona scutellaris*, também conhecida como “Uruçu do Nordeste”. A *Malassezia pachydermatis* é uma levedura patogênica oportunista que pode atuar isoladamente ou associada a outros agentes, causando no animal uma otite externa. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia do mel da abelha *M. scutellaris* no combate a *M. pachydermatis*, *in vitro*, também comparando o mel coletado em duas diferentes regiões do Brejo Paraibano. O mel de *Apis mellifera* também foi utilizado para efeito de comparação, levando em consideração seu baixo custo. O mel foi utilizado adicionando-o ao meio ágar Sabouraud Cloranfenicol nas diferentes concentrações de 50%, 37,5%, 25% e 12,5%. No controle positivo foi adicionado ao meio ágar Sabouraud Cloranfenicol o medicamento Auritop®, na concentração de 50%. No controle negativo foi utilizado apenas o meio ágar Sabouraud Cloranfenicol. O experimento foi realizado em triplicata para cada concentração, controle positivo e negativo. Os tratamentos com mel utilizados foram nomeados de T1 = mel de *M. scutellaris* da cidade de Bananeiras, T2 = mel de *M. scutellaris* da cidade de Areia e T3 = mel de *A. mellifera* da cidade de Bananeiras. Os resultados obtidos levaram em consideração a inibição do crescimento da *M. pachydermatis* pelo mel no período de 48 horas, na estufa à temperatura de 37°C. Observou-se que no T1 e T3 a partir de 25% o crescimento foi nulo. Porém, no T2 com o aumento da concentração houve crescimento em todas as placas, isto pode ter sido causado pelo estado mais líquido desse mel. Nos controles negativos houve crescimento em 100% e nos controles positivos não houve crescimento do fungo. Ao final da pesquisa observou-se que o mel possui atividade terapêutica em diferentes concentrações contra a levedura, fato que pode significar, após outros estudos de segurança *in vitro* e *in vivo*, além de clínicos, uma alternativa para o tratamento de otites provocadas por este fungo.

Palavras-chave: Mel, atividade antifúngica, *Malassezia*, cão, otite.

ABSTRACT

PEREIRA, Ludmylla de Lourdes dos Santos, Federal University of Paraíba, January 2017. ***In vitro* evaluation of the antimicrobial activity of honey of the honey bee *Melipona scutellaris* on the fungus *Malassezia pachydermatis*.** Advisor: Luiz Eduardo Carvalho Buquera.

Honey is a natural food produced by different species of bees, which has antimicrobial, antifungal and anti-inflammatory activity. Bees without sting or meliponíneos, constitute a group of more than 300 species, among them the *Melipona scutellaris*, also well-known like "Uruçu of the Nordeste". *Malassezia pachydermatis* is an opportunistic pathogen that can act alone or in association with other agents, causing an external otitis in the animal. The objective of this work was to evaluate the effectiveness of honey *M. scutellaris* in the fight against *M. pachydermatis*, *in vitro*, also comparing honey collected in two different regions of the Brejo Paraibano. *Apis mellifera* honey was also used for comparison purposes, taking into account its low cost. The honey was used by adding it to the Sabouraud agar medium Cloranfenicol in the different concentrations of 50%, 37,5%, 25% and 12,5%. In the positive control was added to the Sabouraud agar medium Chloramphenicol the medicine Auritop®, in the concentration of 50%. In the negative control, only the Sabouraud agar medium Clorafenicol was used. The experiment was performed in triplicate for each concentration, positive and negative control. The honey treatments used were named T1 = honey from *M. scutellaris* from the city of Bananeiras, T2 = honey from *M. scutellaris* from the city of Areia and T3 = honey from *A. mellifera* from the city of Bananeiras. The results obtained took into account the inhibition of growth of *M. pachydermatis* by honey in the 48 hour period in the oven at 37°C. It was observed that in T1 and T3 from 25% the growth was null. However, in T2 with increasing concentration there was growth in all plaques, this may have been caused by the more liquid state of this honey. In the negative controls there was growth in 100% and in the positive controls there was no growth of the fungus. At the end of the research it was observed that honey has therapeutic activity in different concentrations against yeast, which may mean, after other *in vitro* and *in vivo* safety studies, besides clinical, an alternative for the treatment of otitis caused by this fungus.

Key words: Honey, antifungal activity, *Malassezia*, dog, otitis.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	10
MATERIAL E MÉTODOS.....	12
RESULTADOS E DISCUSSÃO	11
CONCLUSÃO	14
REFERÊNCIAS	14
ANEXO 1	17

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO MEL DA ABELHA *MELIPONA SCUTELLARIS* SOBRE O FUNGO *MALASSEZIA PACHYDERMATIS*¹

Ludmylla L. S. Pereira²; Kaliane Costa²; Laís Q. B. Freire²; Francisca M. C. Dias²; Gabriela S. C. H. Farias²; Lidiane K. S. Rodrigues²; Anne E. F. Souza³

ABSTRACT.- Pereira L.L.S., Souza A.E.F., Costa K., Freire L.Q.B., Dias F.M.C., Farias G.S.C.H., Rodrigues L.K.S. 2017. [*In vitro* evaluation of the antimicrobial activity of honey of the honey bee *Melipona scutellaris* on the fungus *Malassezia pachydermatis*.] Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana do mel da abelha *Melipona scutellaris* sobre o fungo *Malassezia pachydermatis*. Pesquisa Veterinária Brasileira. Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, Cidade Universitária, Areia, PB 58397-000, Brazil. Email: anneevy8@gmail.com

Honey is a natural food produced by different species of bees, which has antimicrobial, antifungal and anti-inflammatory activity. Bees without sting or meliponíneos, constitute a group of more than 300 species, among them the *Melipona scutellaris*, also well-known like "Uruçu of the Nordeste". *Malassezia pachydermatis* is an opportunistic pathogen that can act alone or in association with other agents, causing an external otitis in the animal. The objective of this work was to evaluate the effectiveness of honey *M. scutellaris* in the fight against *M. pachydermatis*, *in vitro*, also comparing honey collected in two different regions of the Brejo Paraibano. *Apis mellifera* honey was also used for comparison purposes, taking into account its low cost. The honey was used by adding it to the Sabouraud agar medium Cloranfenicol in the different concentrations of 50%, 37,5%, 25% and 12,5%. In the positive control was added to the Sabouraud agar medium Chloramphenicol the medicine Auritop®, in the concentration of 50%. In the negative control, only the Sabouraud agar medium Clorafenicol was used. The experiment was performed in triplicate for each concentration, positive and negative control. The honey treatments used were named T1 = honey from *M. scutellaris* from the city of Bananeiras, T2 = honey from *M. scutellaris* from the city of Areia and T3 = honey from *A. mellifera* from the city of Bananeiras. The results obtained took into account the inhibition of growth of *M. pachydermatis* by honey in the 48 hour period in the oven at 37°C. It was observed that in T1 and T3 from 25% the growth was null. However, in T2 with increasing concentration there was growth in all plaques, this may have been caused by the more liquid state of this honey. In the negative controls there was growth in 100% and in the positive controls there was no growth of the fungus. At the end of the research it was observed that honey has therapeutic activity in different concentrations against yeast, which may mean, after other *in vitro* and *in vivo* safety studies, besides clinical, an alternative for the treatment of otitis caused by this fungus.

INDEX TERMS: Honey, antifungal activity, *Malassezia*, dog, otitis.

¹Recebido em

Aceito para publicação em

²Estudantes de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Cidade Universitária, Areia, PB 58397-000, Brazil.

³Professora Doutora da Universidade Federal Da Paraíba (UFPB), Cidade Universitária, Areia, PB 58397-000, Brazil Autor para correspondência: anneevy8@gmail.com

RESUMO O mel é um alimento natural produzido por diferentes espécies de abelhas, que apresenta atividade antimicrobiana, antifúngica, anti-inflamatória. As abelhas sem ferrão ou meliponíneos, constituem um grupo de mais de 300 espécies, entre elas a *Melipona scutellaris*, também conhecida como "Uruçu do Nordeste". A *Malassezia pachydermatis* é uma levedura patogênica oportunista que pode atuar isoladamente ou associada a outros agentes, causando no animal uma otite externa. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia do mel da abelha *M. scutellaris* no combate a *M. pachydermatis*, *in vitro*, também comparando o mel coletado em duas diferentes regiões do Brejo Paraibano. O mel de *Apis mellifera* também foi utilizado para efeito de comparação, levando em consideração seu baixo custo. O mel foi utilizado adicionando-o ao meio ágar Sabouraud Cloranfenicol nas diferentes concentrações de 50%, 37,5%, 25% e 12,5%. No controle positivo foi adicionado ao meio ágar Sabouraud Cloranfenicol o medicamento Auritop®, na concentração de 50%. No controle negativo foi utilizado apenas o meio ágar Sabouraud Clorafenicol. O experimento foi realizado em triplicata para cada concentração, controle positivo e negativo. Os tratamentos com mel utilizados foram nomeados de T1 = mel de *M. scutellaris* da cidade de Bananeiras, T2 = mel de *M. scutellaris* da cidade de Areia e T3 = mel de *A. mellifera* da cidade de

Bananeiras. Os resultados obtidos levaram em consideração a inibição do crescimento da *M. pachydermatis* pelo mel no período de 48 horas, na estufa à temperatura de 37°C. Observou-se que no T1 e T3 a partir de 25% o crescimento foi nulo. Porém, no T2 com o aumento da concentração houve crescimento em todas as placas, isto pode ter sido causado pelo estado mais líquido desse mel. Nos controles negativos houve crescimento em 100% e nos controles positivos não houve crescimento do fungo. Ao final da pesquisa observou-se que o mel possui atividade terapêutica em diferentes concentrações contra a levedura, fato que pode significar, após outros estudos de segurança *in vitro* e *in vivo*, além de estudos clínicos, uma alternativa para o tratamento de otites provocadas por este fungo.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Mel, atividade antifúngica, *Malassezia*, cão, otite.

INTRODUÇÃO

O mel é um dos produtos fornecidos pelas abelhas mais conhecidos e disseminados pelo mundo, foi um dos primeiros alimentos do homem, que o utilizava também como recurso medicinal (Silva et al., 2006). Sua ação biológica inibe várias espécies de microrganismos, incluindo alguns fungos, bactérias e vírus (Molan, 1992; Henriques, 2004). A utilização do mel contra infecções bacterianas faz parte da medicina tradicional há séculos. Porém, foi substituída por antibióticos sintéticos e semissintéticos (Molan, Smith e Reid, 1988).

A atual tendência mundial na busca de terapias alternativas para o tratamento de doenças comuns, vem do interesse em minimizar os efeitos colaterais, normalmente presentes nas terapias convencionais e da necessidade de recursos acessíveis à população. Particularmente nas sociedades onde há desigualdade social profunda, como no continente latino-americano, é alto o custo da medicina científica, dos exames sofisticados, das intervenções cirúrgicas complexas e dos equipamentos modernos de diagnóstico (Avila-Pires, 1995; Luz, 2005).

A espécie *Melipona scutellaris* Latreille, conhecida como “Uruçu do Nordeste” ou “Uruçu verdadeira”, foi uma das primeiras espécies de abelhas a serem domesticadas pelos índios Potiguaras, Kiriri, Xucuru, Pataxó, Paiaku, Tupicuruba e Aymoré. Os colonizadores portugueses, que apreciavam o mel dessa espécie, logo aprenderam as técnicas de criação, o que levou a *Melipona scutellaris* L. a ser uma das espécies de abelhas sem ferrão mais criadas no Nordeste (Kerr et al. 1996; Imperatriz-Fonseca et al., 2011).

Os meliponíneos, ou abelhas sem ferrão, constituem um grupo de abelhas formado por mais de 300 espécies conhecidas em todo o mundo. Caracterizam-se por serem sociais e possuírem o ferrão atrofiado, impossibilitando o seu uso, razão pela qual são popularmente chamadas de abelhas sem ferrão (Freitas, 2003). Segundo Freitas (2003), são nativas do Brasil e estão presentes em todo o território nacional, distribuindo-se as espécies nas diferentes regiões. O mel de *Apis mellifera* tem sido objeto de pesquisas científicas em várias partes do mundo, mas os estudos sobre a atividade antimicrobiana do mel de abelhas nativas do grupo dos meliponíneos são escassos quando comparados a *A. mellifera* (Gonçalves et al., 2005).

A atividade antimicrobiana do mel é dada pelos fatores físicos, como sua alta osmolaridade, acidez (pH de 3,6), fator responsável por inibir o crescimento de muitas espécies de microrganismos e enzimas como invertase, diastase, glicose oxidase, catalase e fosfatase, que são responsáveis por digerirem o tecido necrótico. Fatores químicos relacionados com a presença das substâncias voláteis como os flavonóides são responsáveis pela ação antibacteriana, anti-inflamatória e cicatrizante, atribuindo-se assim ao mel inúmeros efeitos benéficos em várias condições patológicas. Com a realização de diversos trabalhos científicos, pode-se contemplar o crescimento da Apiterapia, cujos efeitos benéficos à saúde humana têm sido considerados por um número maior de profissionais da área da saúde (Barbosa et al., 2007).

A otite externa é uma inflamação dos componentes do tecido mole do meato auditivo externo, constituindo um dos problemas mais comuns e frustrantes encontrados na clínica de pequenos animais. (Birchard e Sherding, 2003). Segundo White (1992), observa-se dor, desconforto, formação de exsudato e/ou cerúmen em grande quantidade, odor desagradável e balançar constante da cabeça. Possui etiologia multifatorial, sendo isolados vários agentes no conduto auditivo doente, como bactérias, fungos e ácaros. Suas causas são diversas, as quais podem ser classificadas como fatores primários, predisponentes e perpetuantes.

A *Malassezia pachydermatis* pode ser considerada um dos fatores perpetuantes, ou seja, responsáveis pela manutenção da resposta inflamatória, mesmo que os fatores primários não possam mais estar presentes (Rosychuk; Luttgen, 2004). A *M. pachydermatis* pode atuar isoladamente ou associada a outros agentes. É uma levedura patogênica oportunista que apresenta alta infectividade, no caso do aumento do número de células, em animais que apresentem condições de umidade e calor no meato acústico externo e na pele assim como em casos de distúrbios imunológicos (Fraser, 1965; Aizawa et al., 1999).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a ação inibitória do mel da abelha *M. scutellaris* no combate a levedura *M. pachydermatis*, *in vitro*, ainda comparando o mel coletado em duas diferentes regiões do Brejo Paraibano. Além disso, o mel de *A. mellifera* também foi avaliado considerando seu baixo custo.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva do Hospital Veterinário do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, localizado na cidade de Areia-PB, no período de outubro de 2015 a julho de 2016. As amostras foram coletadas em cães que ao exame clínico e otológico apresentaram sinais clínicos de otite externa. A coleta foi realizada com swab estéril, friccionando-o na parte externa do meato acústico dos animais. O swab com o material coletado foi distribuído através de movimento de rotação em lâminas de vidro e em seguida foram coradas com kit Panótico Rápido®. Na análise microscópica (objetiva de 100X) buscaram-se células leveduriformes, com formato de pegada característico da *M. pachydermatis*. (Figura 1)

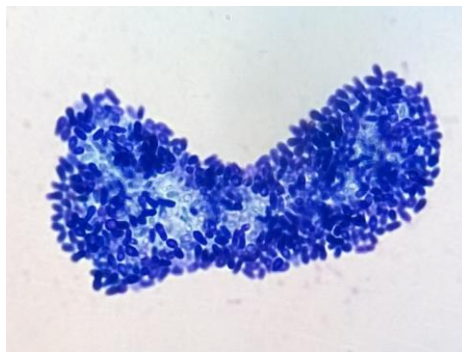


Figura 1 – *Malassezia pachydermatis*
(Fonte: Arquivo pessoal)

Os animais cujas amostras revelaram presença da levedura *M. pachydermatis* pelo exame direto, foram submetidos a uma nova coleta de material do ouvido acometido. Na cabine de segurança biológica, o swab foi umedecido com água destilada estéril à temperatura ambiente e distribuído de forma uniforme em um pedaço de fita adesiva com aproximadamente 3cm de comprimento por 2 cm de largura. Essa fita posteriormente foi depositada sob uma gota (50µl) de azeite de oliva extra-virgem que foi adicionado ao meio ágar Sabouraud Cloranfenicol solidificado. A partir das placas que apresentaram colônias isoladas, foi escolhida uma colônia para ser repicada no meio ágar Sabouraud Cloranfenicol, utilizando a metodologia já descrita.

Foi analisado o mel da *M. scutellaris* obtido em dois locais diferentes do Brejo Paraibano: um no Distrito de Santa Maria, na cidade de Areia e outro no Distrito de Vila Maia, na cidade de Bananeiras. Além disso, o mel de *Apis mellifera* também foi utilizado na pesquisa, para efeito de comparação, levando em consideração seu baixo custo. Este foi obtido no Distrito de Vila Maia, na cidade de Bananeiras. O mel foi coletado por meio de uma seringa de 10 mL com auxílio de agulha 30 x 10 mm, ambas estéreis.

Na cabine de segurança biológica, com auxílio de uma alça de platina, uma colônia da *M. pachydermatis* que foi repicada no meio ágar Sabouraud Cloranfenicol foi retirada e transferida para um tubo de ensaio contendo água destilada estéril na temperatura ambiente. Utilizando um agitador vortex a solução foi homogeneizada até atingir a turvação correspondente a 0,5 na escala de McFarland. Um swab estéril foi mergulhado nessa solução e transferido para a fita adesiva, que posteriormente, foi disposta sob uma gota (50µl) de azeite extra-virgem presente na placa de Petri contendo o meio ágar Sabouraud Cloranfenicol suplementando com o mel nas concentrações de 12,5%, 25%, 37,5% e 50%. No controle positivo ao meio ágar Sabouraud Cloranfenicol foi adicionado Auritop® na concentração de 50%, medicamento na qual uma de suas composições é o antifúngico cetoconazol. No controle negativo foi utilizado apenas o meio ágar Sabouraud Cloranfenicol. Todas as placas foram incubadas na estufa à temperatura de 37°C por um período de 48 horas. O teste foi realizado em triplicata para cada concentração, controle positivo e controle negativo.

Após o período na estufa, foi realizada uma análise macroscópica onde foi visualizado o crescimento das colônias. Na análise microscópica, a fita adesiva foi retirada do meio, corado com o Kit Panótico Rápido® e disposta sobre uma lâmina de vidro para visualização das formas leveduriformes da *M. pachydermatis*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os tratamentos utilizados foram T1= mel de urucu da cidade de Bananeiras, T2= mel de urucu da cidade de Areia e T3= mel de *Apis Mellifera* da cidade de Bananeiras. Os resultados obtidos levaram em consideração a inibição do crescimento da *M. pachydermatis* no período de 48 horas na estufa à temperatura de 37°C, avaliando se o mel mostrou eficácia no combate ao fungo.

O mel T1 mostrou eficácia nas concentrações de 50%, 37,5% e 25%, não havendo crescimento da *M. pachydermatis* nas placas. Na concentração de 12,5% houve crescimento em 66,6% das placas. No controle positivo não houve crescimento. No controle negativo houve crescimento em 100% das placas (Figura 2).

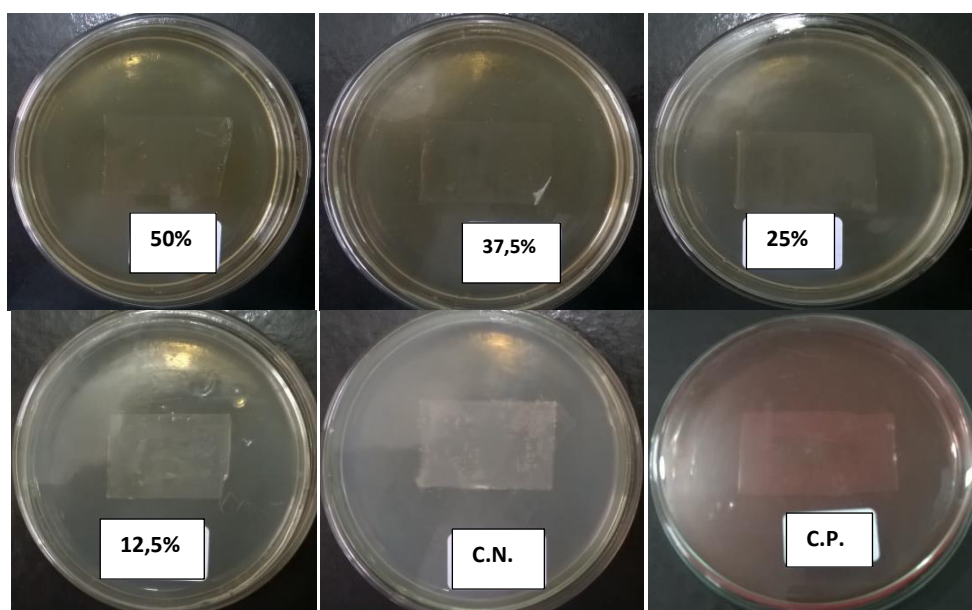


Figura 2 – Mel T1 nas concentrações de 50%, 37,5%, 25%, 12,5%, Controle Negativo e Controle Positivo. (Fonte: Arquivo pessoal)

O mel T2 mostrou eficácia nas concentrações de 25% e 12,5%, não havendo crescimento da *M. pachydermatis* nas placas. Nas concentrações de 50% e 37,5% houve crescimento em 100% das placas. Esse crescimento pode ser considerado pelo estado natural mais líquido desse mel em comparação ao outro mel. A temperatura de 37°C acabou transformando o meio de cultura ao estado mais líquido, fazendo com que o mel em vez de combater o fungo tornasse o meio um lugar propício para seu crescimento. No controle positivo o crescimento foi ausente. No controle negativo houve crescimento de 100% (Figura 3).

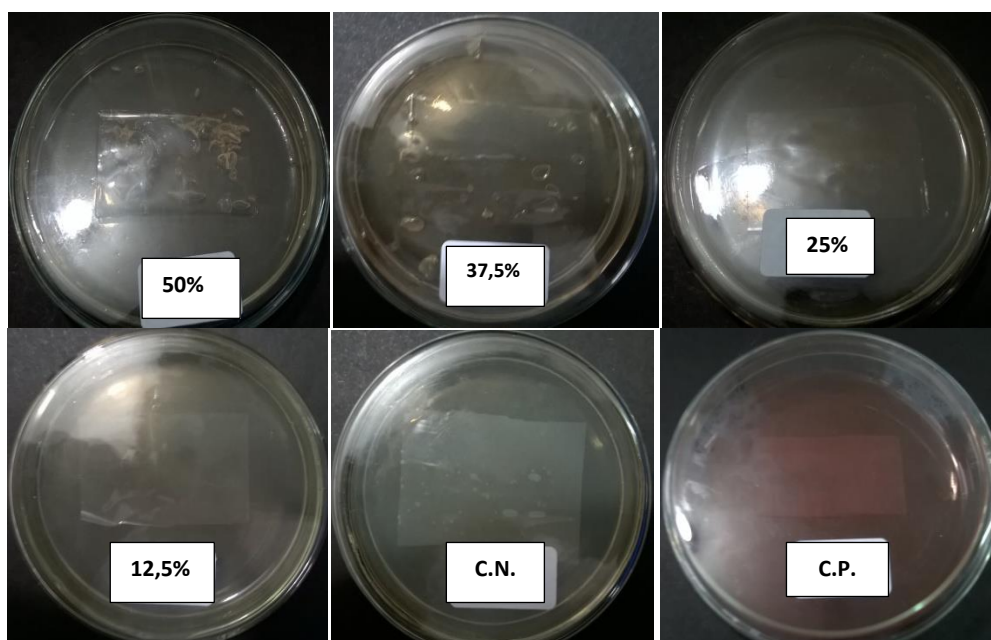


Figura 3 - Mel T2 nas concentrações de 50%, 37,5%, 25%, 12,5%, Controle Negativo e Controle Positivo. (Fonte: Arquivo pessoal)

O mel T3 mostrou eficácia nas concentrações de 50%, 37,5% e 25%, não havendo crescimento da *M. pachydermatis* nas placas. Na concentração de 12,5% houve crescimento em 100% das placas. No controle positivo não houve crescimento. No controle negativo houve crescimento em 100% das placas (Figura 4).

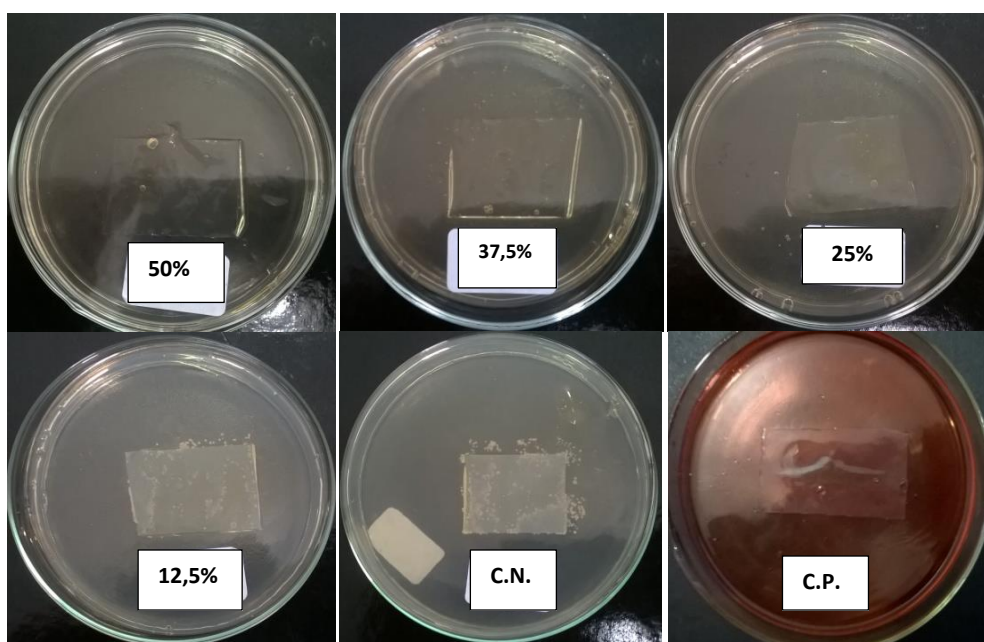


Figura 4 - Mel T3 nas concentrações de 50%, 37,5%, 25%, 12,5%, Controle Negativo e Controle Positivo. (Fonte: Arquivo pessoal)

Com os dados obtidos foi realizada a análise estatística por meio do modelo linear generalizado, utilizando a distribuição binominal pelo Programa SAS. Observou-se que houve interação entre os tipos de méis e as respectivas concentrações empregadas. Além disso, nos tratamentos T1 e T3 a partir de 25% o crescimento foi nulo, porém, no T2, com o aumento da concentração, a probabilidade de crescimento também aumentou (Figura 5).

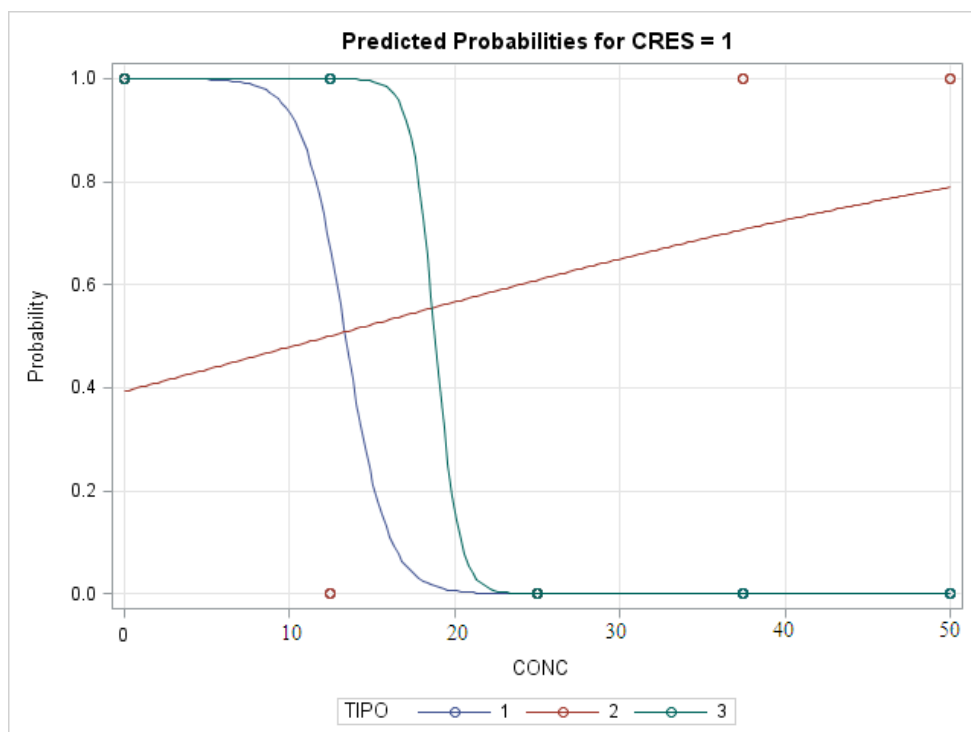


Figura 5 – Análise estatística dos tipos de méis. (Fonte: Arquivo pessoal)

A partir dos resultados obtidos pode-se observar que a ação antifúngica do mel da abelha *M. scutellaris* e da abelha *A. mellifera* demonstrou a mesma ação inibitória contra o fungo *M. pachydermatis* nas diferentes concentrações. Revelando assim, que estudos com a utilização do mel de *A. mellifera* que possui valor de mercado

mais baixo, podem ser de grande valia. Também foi notado que as amostras do mesmo tipo de mel da *M. scutellaris*, só que de regiões diferentes, demonstraram comportamento diferenciado em relação ao efeito analisado, determinado assim que podem existir fatores que influenciam na ação antifúngica do mel. Segundo Weston (2000), a variação na ação antimicrobiana se deve a muitos fatores que podem afetar a composição química dos méis, incluindo diferenças no solo e nas condições atmosféricas, além das diferentes espécies vegetais que contribuem para a formação desses produtos.

Existem outros fatores que podem contribuir para a propriedade antimicrobiana do mel como alta pressão osmótica, baixa atividade de água, baixo pH, baixo conteúdo protéico, baixo potencial redox devido ao alto teor de açúcares redutores, alta taxa carbono/nitrogênio, a viscosidade que limita a solubilidade do oxigênio e outros agentes químicos e fitoquímicos (Taormina et al., 2001; Weston, 2000; Hooper, 1976; White, 1979; Molan, 1997). A soma de todas essas características pode ter sido responsável pela ação antifúngica demonstrada pelo mel.

Segundo Ballivian (2008), os meliponíneos apresentam uma característica relevante, pois armazenam o mel em potes de cerume que são feitos de cera combinada com própolis. Assim, considerando que o mel de abelha sem ferrão durante o seu armazenamento permanece em contato com a própolis, rica em resinas de plantas, existe uma grande possibilidade de que esses constituintes fitoquímicos sejam infundidos ao mel, conferindo-lhe propriedades antibacterianas, antifúngicas e antivirais (Temaru et al., 2007).

CONCLUSÃO

O resultado deste experimento foi positivo, pois tivemos a oportunidade de provar que o mel da *M. scutellaris* possui atividade antimicrobiana em diferentes concentrações contra a *M. pachydermatis*, fato que pode significar, após outros estudos, de segurança *in vitro* e *in vivo*, além de clínicos, uma forma de tratamento alternativo para otites provocadas por este fungo.

REFERÊNCIAS

- Aizawa, T.; Kano, R.; Nakamura, Y.; Watanabe, S.; Hasegawa, A. Molecular heterogeneity in clinical isolates of *Malassezia pachydermatis* from dogs. *Veterinary Microbiology*, v.70, n.1, p.67-75, 1999.
- Avila-Pires, F. D. de. Teoria e prática das práticas alternativas. *Revista de Saúde Pública*. V. 29, n. 2, p. 147 – 151, 1995.
- Ballivián, J.M.P.P. Abelhas nativas sem ferrão. São Leopoldo: Oikos, 2008, p. 128, 2008.
- Barbosa, M. J. G. et al. Síndrome de fournier: curativo usual x curativo com mel. 2007. Trabalho apresentado no 10º Congresso de Iniciação Científica, 4ª mostra de Pós-Graduação e 1ª Mostra do Ensino Médio, UNISA - Universidade de Santo Amaro, São Paulo –SP, 2007.
- Birchard, S. J; Sherding, R. G. Manual Saunders: clínica de pequenos animais. Roca, São Paulo, 2º edição; 2003.
- Fraser, G. Aetiology of otitis externa in the dog. *Journal of Small Animal Practice*, v.6, n.1, p.445-452, 1965.
- Freitas, B. M. Meliponíneos. *Fortaleza*: [s.n.], p. 9, 2003.
- Gonçalves, A. L., Alves Filho, A., Menezes, H. Atividade antimicrobiana do mel da abelha nativa sem ferrão *Nannotrigona testaceicornis* (Hymenoptera: Apidae, meliponini). *Arquivo Instituto de Biologia*. São Paulo: [s.n.], v. 72, n. 4, p. 455 - 459, 2005.
- Henriques, A. Mel: um milagre da natureza para o tratamento de feridas? School of applied Sciences. University of Wales Institute; Wales-Cardiff, UK: [s.n.], 2004.
- Hooper, T. Guia do apicultor. [S.l.]: Publicações Europa-América, p. 223-266, 1976.
- Imperatriz-Fonseca, V. L.; Laurino, M. C.; Koedam, D.; Martins, C. F. A distribuição geográfica da abelha uruçú (*Melipona scutellaris*, Latreille, 1881), (Apidae – Meliponinae). Disponível em acesso em: 22 de out. 2017.
- Luz, M. T. Cultura contemporânea e medicinas alternativas: novos paradigmas em saúde no Fim do Século XXI. *Revista de Saúde Coletiva*. V. 15, p. 145 – 176, 2005.
- Molan, P. C. A brief review of the use of honey as a clinical dressing. *Austr. J. Wound Manage.*, v. 6, n. 4, p. 148-158, 1998.
- Molan, P. C. The antibacterial activity of honey: The nature of the antibacterial activity. *Bee World*, Hamilton, New Zealand: [s.n.], v. 73, n.1, p. 5 - 28, 1992.
- Rosyhuk, R. A.W.; Luttgen, P. Doenças dos ouvidos. In: Ettinger, S. J.; Feldman, E. C. Tratado de medicina interna veterinária. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 1042a, 2004.
- Silva, R.A. et al. Composição e propriedades terapêuticas do Mel de Abelha. *Alimentos e Nutrição*. Araraquara, v. 17, n. 1, p. 113-20, jan./mar., 2006.
- Statistical Analysis Software (SAS) versão 9.4 (SAS Inst., Cary, Estados Unidos)
- Taormina, P. J.; Niemira, B. A.; Beuchat, L. R. Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power. *Int. J. Food Microbiol*, v. 69, n. 3, p. 217-225, 2001.
- Temaru, E.; Shimura, S.; Amano, K.; Karasawa, T. Antibacterial activity of honey from stingless honeybees (Hymenoptera: Apidae; Meliponinae). *Polish Journal of Microbiology*, v. 56, p. 281-285, 2007.

- Weston, R.J. The contribution of catalase and others natural products to the antibacterial activity of honey: a review. *Food Chemistry*, v. 71, p. 235-239, 2000.
- White, J.W. Composition of honey. In: CRANE, E. *Honey: a comprehensive survey*. Londres: Heinemann, p. 157-207, 1979.
- White, S.D. Otitis externa. *Walt. Int. Focus*, v.2, p.2-9, 1992.

ANEXO 1

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Os artigos devem ser submetidos através do Sistema Scholar One, link <<https://mc04.manuscriptcentral.com/pvb-scielo>>, com os arquivos de texto na versão mais recente do Word e formatados de acordo com o modelo de apresentação disponíveis no ato de submissão e no site da revista (www.pvb.com.br). Devem constituir-se de resultados de pesquisa ainda não publicados e não considerados para publicação em outro periódico.

Apesar de não serem aceitas comunicações (Short communications) sob a forma de “Notas Científicas”, não há limite mínimo do número de páginas do artigo enviado.

Embora sejam de responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos artigos, o Conselho Editorial, com a assistência da Assessoria Científica, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias. Os artigos submetidos são aceitos através da aprovação pelos pares (peer review).

NOTE: Em complementação aos recursos para edição da revista é cobrada taxa de publicação (paper charge) no valor de R\$ 2.000,00 por artigo editorado, na ocasião do envio da prova final, ao autor para correspondência.

1. Os artigos devem ser organizados em Título, ABSTRACT, RESUMO, INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSSÃO, CONCLUSÕES, Agradecimentos e REFERÊNCIAS:

a) o **Título** deve ser conciso e indicar o conteúdo do artigo; pormenores de identificação científica devem ser colocados em MATERIAL E MÉTODOS.

b) **O(s) Autor(es) deve(m) sistematicamente abreviar seus nomes quando compridos**, mas mantendo o primeiro nome e o último sobrenome por extenso, como por exemplo:

Paulo Fernando de Vargas Peixoto escreve Paulo V. Peixoto (inverso, Peixoto P.V.); Franklin Riet-Correa Amaral escreve Franklin Riet-Correa (inverso, Riet-Correa F.). **Os artigos devem ter no máximo 8 (oito) autores;**

c) o **ABSTRACT** deve ser uma versão do RESUMO em português, podendo ser mais explicativo, seguido de “INDEX TERMS” que incluem palavras do título;

d) o **RESUMO** deve conter o que foi feito e estudado, indicando a metodologia e dando os mais importantes resultados e conclusões, seguido dos “TERMOS DE INDEXAÇÃO” que incluem palavras do título;

e) a **INTRODUÇÃO** deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma assuma importância principal, e finalizar com a indicação do objetivo do artigo;

f) em **MATERIAL E MÉTODOS** devem ser reunidos os dados que permitam a repetição da experimentação por outros pesquisadores. Em experimentos com animais, deve constar a aprovação do projeto pela Comissão de Ética local;

g) em **RESULTADOS** deve ser feita a apresentação concisa dos dados obtidos. **Quadros** (em vez de Tabelas) devem ser preparados sem dados supérfluos, apresentando, sempre que indicado, médias de várias repetições. É conveniente expressar dados complexos, por gráficos (=Figuras), ao invés de apresentá-los em Quadros extensos;

h) na **DISCUSSÃO** devem ser discutidos os resultados diante da literatura. Não convém mencionar artigos em desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação do autor e da revista de publicá-los;

i) as **CONCLUSÕES** devem basear-se somente nos resultados apresentados;

j) **Agradecimentos** devem ser sucintos e não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé;

k) A Lista de **REFERÊNCIAS**, que só incluirá a bibliografia citada no artigo e a que tenha servido como fonte para consulta indireta, deverá ser ordenada alfabética e cronologicamente, pelo sobrenome do primeiro autor, seguido dos demais autores (todos), em caixa alta e baixa, do ano, do título da publicação citada, e, abreviado (por extenso em casos de dúvida), o nome do periódico ou obra, usando sempre como exemplo os últimos fascículos da revista (www.pvb.com.br).

2. Na elaboração do texto devem ser atendidas as seguintes normas:

a) A digitação deve ser na fonte **Cambria, corpo 10, entre-linha simples**; a **página** deve ser **no formato A4, com 2cm de margens** (superior, inferior, esquerda e direita), o texto deve ser corrido e não deve ser formatado em duas colunas, com as legendas das Figuras no final (logo após as REFERÊNCIAS). As Figuras e os Quadros devem ter seus arquivos fornecidos separados do texto. Os nomes científicos devem ser escritos por extenso no início de cada capítulo.

b) a redação dos artigos deve ser concisa, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal; no texto, os sinais de chamada para notas de rodapé serão números arábicos colocados em sobrescrito após a palavra ou frase que motivou a nota. Essa numeração será contínua por todo o artigo; as notas deverão ser lançadas ao pé da página em que estiver o respectivo número de chamada, **sem o uso do “Inserir nota de fim”, do Word**. Todos os Quadros e todas as Figuras têm que ser citados no texto. Estas citações serão feitas pelos respectivos números e, sempre que possível, em ordem crescente. ABSTRACT e RESUMO serão escritos corridamente em um só parágrafo e não devem conter citações bibliográficas.

c) **no rodapé da primeira página deverá constar endereço profissional completo de todos os autores (na língua do país dos autores), o e-mail do autor para correspondência e dos demais autores**. Em sua redação deve-se usar vírgulas em vez de traços horizontais;

d) siglas e abreviações dos nomes de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no artigo, serão colocadas entre parênteses, após o nome da instituição por extenso;

e) citações bibliográficas serão feitas pelo sistema “autor e ano”; artigos de até dois autores serão citados pelos nomes dos dois, e com mais de dois, pelo nome do primeiro, seguido de “et al.”, mais o ano; se dois artigos não se distinguem por esses elementos, a diferenciação será feita através do acréscimo de letras minúsculas ao ano. **Artigos não consultados na íntegra pelo(s) autor(es), devem ser diferenciados, colocando-se no final da respectiva referência, “(Resumo)” ou “(Apud Fulano e o ano.)”; a referência do artigo que serviu de fonte, será incluída na lista uma só vez**. A menção de comunicação pessoal e de dados não publicados é feita no texto somente com citação de Nome e Ano, colocando-se na lista das Referências dados adicionais, como a Instituição de origem do(s) autor(es). Nas citações de artigos colocados cronologicamente entre parênteses, **não se usará vírgula entre o nome do autor e o ano, nem ponto-e-vírgula após cada ano**, como por exemplo: (Priester & Haves 1974, Lemos et al. 2004, Krametter-Froetcher et. al. 2007);

f) a Lista das **REFERÊNCIAS** deverá ser apresentada em **caixa alta e baixa**, com os nomes científicos em **itálico** (grifo), e **sempre em conformidade com o padrão adotado nos últimos fascículos da revista**, inclusive quanto à ordenação de seus vários elementos.

3. Os gráficos (=Figuras) devem ser produzidos em 2D, com colunas em branco, cinza e preto, sem fundo e sem linhas. A chave das convenções adotadas será incluída

preferentemente, na área do gráfico (=Figura); evitar-se-á o uso de título ao alto do gráfico (=Figura).

4. **As legendas explicativas das Figuras devem conter** informações suficientes para que estas sejam compreensíveis, (até certo ponto autoexplicativas, independente do texto).

5. **Os Quadros devem ser** explicativos por si mesmos. Entre o título (em negrito) e as colunas deve vir o cabeçalho

entre dois traços longos, um acima e outro abaixo. **Não há traços verticais, nem fundos cinzas.** Os sinais de chamada serão alfabéticos, recomeçando, se possível, com “a” em cada Quadro; as notas serão lançadas logo abaixo do Quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço curto à esquerda.